ISTITUTI CLINICI DI PERFEZIONAMENTO
Corso di Fisiopatologia delle malattie infettive
Professore incaricato S. BELFANTI
DIRETTORE DELL'ISTITUTO SIEROTERAPICO MILANESE

:: I Vaccini Tifici ::

e la loro Valutazione

Estratto dal :: :: ::
" Pensiero Medico "
Luglio 1913 :: :: ::

ISTITUTI CLINICI DI PERFEZIONAMENTO DI MILANO
Corso di Fisiopatologia delle malattie infettive

I VACCINI TIFICI E LA LORO VALUTAZIONE

Lezione del Prof. Inc. S. BELFANTI

« Il miglior vaccino sarà quello che darà nel più breve tempo il massimo di protezione contro la febbre tifoidea ed il massimo di durata di immunità; che eviterà con sicurezza il formarsi di quel fatto che Wright chiama la *fase negativa*, (come accade ora col maggior numero di vaccini antitifici attualmente adoperati); che sarà con rapidità e facilità assimilato. Finalmente questo vaccino dovrà provocare il minimo di dolori e di reazione generale; condizione che non bisogna punto perdere di vista, poichè l'uomo non può essere rassomigliato ad un animale da laboratorio ».

Con queste belle parole il Vincent definiva nel 1911 le proprietà che dovrebbe avere un buon vaccino tifico, nel mentre presentava il suo nuovo vaccino antitifico polivalente.

Veramente di vaccini antitifici ne correvano per il mondo già in gran quantità tanto che Metchnikoff e Besredka nello stesso anno un po' sarcasticamente ebbero a dire: « nessuna malattia infettiva ha tanti vaccini al suo attivo quanti ne ha il tifo. Paladino Blandini che ebbe la pazienza di farne uno studio d'insieme ne contava già nel 1907 ben 17 tipi. Fatto curioso, soggiungono i predetti AA. tutti *questi vaccini sono efficaci*, per questa ragione — ritenuta come essenziale — che tutti proteggono la cavia contro una o più dosi mortali di bacillo del tifo iniettato nel peritoneo ».

Come è risaputo Metchnikoff per sue esperienze condotte sulle scimmie antropomorfe crede poco al valore delle vaccinazioni antiti-

fiche contro l'infezione naturale del bacillo di Eberth; tuttavia date le grandissime statistiche raccolte nell'Inghilterra, nella Germania, nell'America ed ultimamente in Francia sulla morbilità e mortalità per tifo nei vaccinati, e non vaccinati, con risultati ottimi su quelli che subiscono una buona vaccinazione, non è più lecito dubitare dell'efficacia delle vaccinazioni antitifiche, od almeno il trascurarle e non prenderle in seria considerazione potrebbe essere considerato come poco riguardoso verso la salute umana.

In questo momento poi si è accesa in Francia una vivace polemica sul valore di un vaccino antitifico applicato all'uomo, tra uno dei più competenti e vecchi studiosi del tifo, lo Chantemesse e il Vincent di cui abbiamo riportato più sopra alcune parole; il punto della disquisizione è: se nelle vaccinazioni preventive dell'uomo si possa usare un vaccino antitifico riscaldato anche a temperatura alta oppure questo si dovrebbe proscrivere come inefficace come vorrebbe il Vincent.

Lo Chantemesse sostiene che i bacilli tifici, anche se riscaldati e sterilizzati a 120° C. nel vapore acqueo, iniettati sotto cute possono provocare la formazione di anticorpi (agglutinine), i quali starebbero ad indicare l'avvenuta immunizzazione attiva.

Vincent al contrario afferma che a tale temperatura le proprietà antigene od immunizzatorie del bacillo tifico, sono diminuite o addirittura scomparse, mentre che (se vuolsi avere una buona vaccinazione) l'uccisione del bacillo tifico per una preparazione vaccinale deve essere fatta in modo da alterare il meno possibile la compagine batterica.

È noto infatti a tutti coloro che si occupano di immunizzazioni e preparazioni di sieri e vaccini profilattici e curativi, che se i bacilli morti possono servire sul principiare di un'immunizzazione, bisogna passare ad un trattamento più efficace con bacilli vivi se si vuole ottenere una abbondante e rimunerativa produzione di anticorpi.

A questo scopo Vincent propose l'uccisione dei bacilli tifici coll'etere, con cui realmente si sterilizzano in poche ore, evitandosi non solo le alte temperature di 120° C., ma anche quelle basse, alle quali erano già pervenuti Pfeiffer e Kolle, Wright cc., che consigliano di non riscaldare i vaccini oltre i 60° C.

L'etere secondo l'A. pur uccidendo il bacillo gli lascierebbe tutte quelle proprietà immunizzatorie che solo i bacilli viventi possiedono, come è risaputo e confermato da tutti gli studiosi.

Già Harrison aveva consigliato di scendere più basso dei 60 C.° accontentandosi dei 53° C.; perchè le temperature più alte sono nocive.

Il metodo dell'uccisione dei microbi tifici coll'etere non è nuovo in batteriologia, ed anzi dallo Sclavo largamente già da lungo tempo viene usato per la sterilizzazione di sostanze che si vogliono il meno possibile alterate (sieri, vaccini); e per l'appunto questo A. se ne serve per conservare sterile il suo vaccino tifico; possiamo quindi concedere e ritenere che l'applicazione proposta dal Vincent è comoda ed utile.

Non dimentichiamo però che già il nostro Moreschi insieme col Friedberger fin dal 1905 aveva controllato il potere lisinogeno ed agglutinogeno del vibrione colerigeno, del bacillo del tifo, adoperando per l'uccisione di questi germi il cloroformio il cui meccanismo d'azione sul bacillo, non deve essere troppo differente da quello dell'etere; e così chi scrive ha avuto agio di vedere che l'acetone gode pure di simili proprietà.

Il Moreschi ed il Friedberger, già da allora, avevano in un lavoro compiuto nel laboratorio di Pfeiffer veduti i confini delle proprietà antigene del bacillo del tifo col riscaldamento, constatando che questo non può essere nocivo a tali proprietà anche se spinto fino a 120° C., quando ciò venga fatto su materiale assolutamente secco (metodo Loeffler); mentre un riscaldamento ad umido anche a 100° C., è fortemente dannoso specialmente per i gruppi lisinogeni ed agglutinogeni; la temperatura a 60° invece proposta da Pfeiffer e Kolle e quindi usata da Wright, mentre sterilizza il bacillo non fa perdere al vaccino le sue proprietà di *antigeno completo*.

Nessun dubbio quindi che un'uccisione blanda la quale lasci, diremo, il più intatto possibile la funzionalità varia del protoplasma batterico possa servir meglio di una brutale aggressione che ne sconvolga la compagine, per cui la tesi di Vincent, sebbene non nuova, può essere accettata.

Da che la polemica Chantemesse-Vincent ci ha dato lo spunto sulla questione vaccinale tifica, arrestiamoci su di essa per abbracciarla un po' più largamente, poichè questo è lo scopo principale della nostra lezione.

⁂

La vaccinazione antitifica nella Germania (Pfeiffer-Kolle), nell'Inghilterra (Wright-Leishman), nell'America (Russel), si è affermata da tempo con metodi che poche *cose mutate* (quantitativo numerico dei bacilli, od in peso della sostanza bacillare) si corrispondono tra di loro.

Wright computa infatti i germi da usare numericamente, adope-

rando una data quantità valutata a milioni di germi per cm.^{3}; Pfeiffer e Kolle e così Russel valutano a peso o meglio ad ansa di due milligrammi i quantitativi di patina batterica da aggiungere alla soluzione fisiologica per cm.^{3}.

Nella realtà, salvo differenze quantitative, *questi vaccini che soli per ora hanno al loro beneficio una larghissima prova pratica e dei quali quindi si conosce in modo ampio la capacità vaccinale, sono vaccini bacillari, ossia emulsioni di bacilli in toto.*

Se però sembra indiscutibile per larghissima prova la loro benefica azione immunizzante nel tifo, a loro carico sono anche stabiliti dei difetti non indifferenti per le reazioni locali e generali ch'essi provocano che, se non sono in via ordinaria paragonabili a quelli che spesso dà il vaccino Jenneriano nelle rivaccinazioni dell'adulto, non sono da trascurare specialmente in certi momenti.

I fenomeni generali e specialmente la *febbre*, sono in rapporto (salvo le differenze individuali) *col quantitativo di sostanza bacillare* contenuta nel vaccino, mentre quella locale secondo Hetsch e Kutscher non sarebbe, entro certi limiti, in rapporto colla dose stessa, piccole dosi o maggiori provocando gli stessi effetti locali.

La rapidità maggiore o minore della entrata in scena dei fenomeni reattivi locali, pare legata a quei vaccini che hanno un maggior stato di disgregazione della sostanza del bacillo (autolisati, bacilli sensibilizzati, Hetsch, Kutscher e Garzoli).

Questi fenomeni che compaiono a seconda del vaccino 3-12 ore dopo l'iniezione, sono caratterizzati da un rossore ed una tumefazione più o meno larga, sensibile o dolorosa, con adenite ascellare e sottoclavicolare (se l'iniezione è fatta sul torace) talora dolorabilità al braccio corrispondente. Hetsch e Kutscher con vaccino autolisato metodo di Shiga Neisser, ebbero ad osservare una imponente reazione locale infiammatoria, simile a risipola.

Questi disturbi locali scompaiono presto e, salvo eccezioni, anche se danno noia non sono fatti tali che impensieriscano il medico ed il vaccinato.

Abbiamo detto che la reazione generale febbrile è il sintomo che può impressionare di più il pubblico ignaro del come si svolge questa immunizzazione, poichè esso nella febbre teme l'insediarsi di una infezione (è quello quindi che può ostacolare il diffondersi delle vaccinazioni antitifiche quando queste non diventino impellenti per necessità di fronte a pericoli maggiori), il poter eliminare questo fenomeno o renderlo minimo sarebbe ottima cosa; è interessante quindi vedere a qual fattore contenuto nel vaccino esso sia dovuto.

Noi sappiamo già per pratica, che quando la prima dose vacci-

nale contenga oltre 700 milioni di germi per cm.[3] (Wright), essa possa dare una percentuale maggiore o minore di reazioni febbrili che oltrepassano i 38° C.

Non parliamo dei primitivi vaccini di Wright che contenevano oltre un miliardo di germi e che davano costantemente fenomeni locali e febbre abbastanza spiccati, sebbene di corta durata (36-48 ore); poichè le temperature raggiungevano allora con abbastanza frequenza i 39° C.

Nello stesso modo le primitive dosi vaccinali applicate da Pfeiffer e Kolle e che consistevano per la prima iniezione in un'ansa di coltura uccisa a 60° C., corrispondente a due milligrammi in peso di patina bacillare, provocavano in quasi tutti i vaccinati reazioni febbrili non indifferenti.

Kutscher e Hetsch che hanno seguito il decorso vaccinale col metodo di Pfeiffer alle dosi sopra indicate, così descrivono la sintomatologia delle reazioni febbrili.

« La reazione generale che spesso, ma non sempre, incomincia con brividi, si inizia circa tre ore dopo la vaccinazione con un rialzo termico che di regola scompare dopo 24-48 ore. Nel 20.99 % dei vaccinati la temperatura massima raggiunta dopo la prima iniezione oscilla fra 37 e 38° C., nel 33 % la elevazione termica raggiunge i 38,1 e 38,5° C., nel 16.55 % i 38,6-39° C., nel 14,33 % i 39,1 e 39,5° C., nel 6,66 % i 39,6 e 40° C. e infine nel 0,91 % i 40,1 e 40,5° C.; nel 7,37 % dei vaccinati la temperatura rimane inferiore ai 37.5° C.

Nella metà dei vaccinati circa, la curva febbrile si innalza rapidamente durante alcune ore per ridiventare poi normale. In altri casi invece la curva dopo due giorni torna a rialzarsi per ritornare poi normale con una discesa litica. Alcune volte si osserva febbre moderata continua per circa 36 ore, con ascesa e discesa rapida della curva termica, ed altre volte infine la febbre è continua o remittente segna una ascesa fin verso il secondo giorno, per scomparire per crisi.

Come fenomeni secondari vanno notati: forte dolore di capo, debolezza e abbattimento generale, qualche volta anche dolori articolari, specialmente dolori reumatici nell'articolazioni del ginocchio e dolori alle reni. Si ebbe ad osservare vomito nel 19,4 % dei vaccinati ed in una uguale percentuale dei casi eruzione vescicolare alle labbra. In due casi si verificò albuminuria con qualche cilindro ialino che scomparve dopo 36 ore; probabilmente si tratta qui di albuminuria e cilindruria febbrile passeggiera, non essendosi mai riscontrati epitelii e cilindri ematici ».

Ora queste reazioni febbrili così spiccate coi primi vaccini

si sono fatte meno intense e meno numerose non perchè siasi cambiato dai Maestri il sistema di preparazione del vaccino antitifico, ma perchè l'esperienza ha insegnato esser più opportuno diminuire le primitive dosi. Il primo vaccino Wright, un tempo ad un miliardo di germi, è sceso prima a 750 poi a 500 milioni, quello Pfeiffer Kolle da un'ansa è sceso ad un poco meno di 2/3 circa di essa.

I germi del tifo anche uccisi contengono quindi un veleno pirogeno che provoca rialzi febbrili maggiori o minori a seconda della quantità di germi iniettati ed anche a seconda della sensibilità individuale. In grazia degli esatti lavori di Friedberger e di Moreschi noi possiamo dire di conoscere il titolo della sostanza pirogena contenuta nel bacillo tifico, sia per alcuni animali che, ciò che più importa, per l'uomo.

Secondo questi studiosi basta un 1/500 - 1/1000 - 1/2000 di ansa normale pari a milligrammi 0.001 - 0.0007 - 0.00039 di bacilli uccisi per dare nelle vaccinazioni col metodo da loro proposto, cioè per iniezione endovenosa di tale minima quantità, temperature che possono oscillare tra i 39°-40° C. negli individui sani e giovani dai 21 ai 26 anni.

La iniezione abituale sottocutanea permette certamente dosi molto maggiori; il quantitativo infatti iniettato con un vaccino Wright è molte volte superiore alla dose indicata dai detti AA. e ciò nondimeno non provoca se non eccezionalmente una reazione febbrile così alta. Non paragoniamo poi tale quantità a quella di Pfeiffer Kolle essendo esse da 6-24 mila volta più grande!!

Secondo le ricerche di Moreschi per non avere reazioni febbrili nelle vaccinazioni per iniezione endovenosa, bisognerebbe scendere alla *quattromillesima parte di ansa.*

Nel corpo bacillare del tifo noi abbiamo quindi una sostanza pirogena che per via endovenosa può agire a dosi piccolissime.

Per via sottocutanea essa è maggiormente tollerata, tuttavia crediamo di non andare errati nell'ammettere che in via generale per avere temperature che non sorpassino i 37,6° C. nel maggior numero di vaccinati bisogna che il contenuto bacillare da iniettare sia inferiore ancora ai 500 milioni per innesto sottocutaneo.

Resta ora vedere *se tali limiti sono sufficienti a vaccinare in modo sicuro ed utile.*

Le esperienze sopracitate di Kutscher-Hetsch hanno già messo in chiaro a questo proposito alcuni fatti interessanti. Essi videro che mentre colle vaccinazioni Pfeiffer-Kolle, le quali provocano reazioni febbrili spiccate, quali quelle indicate più sopra, il tasso in anticorpi battericidi e batteriolitici nell'uomo con sole due vaccina-

zioni possono salire fino all'*uno per mille;* colle vaccinazioni di Bassenge e Rimpau che non dànno reazioni febbrili poichè praticate con solo 1/30 - 1/15 - 1/5 di ansa normale, anche dopo la terza vaccinazione tale titolo non sorpassa *uno per cinquanta.*

Secondo i sopradetti AA. vi sarebbe quindi un certo parallelismo tra fatti reattivi e produzione di anticorpi. Tale parallelismo fu invece negato da altri fra cui Wright, Bischoff Friedberger e Moreschi.

Questi anzi dimostrarono sull'uomo, che anche colle piccolissime dosi di bacilli (*un due millesimi* di ansa) per iniezione endovenosa, si ottiene una buona produzione di anticorpi battericidi e batteriolitici.

Noi sappiamo per lunga pratica come in certe infezioni batteriche per ottenere negli animali sieri di un alto valore, bisogna ricorrere alle iniezioni endovenose, (ed il tifo sarebbe tra quelle), ma questo metodo non potendosi nella pratica generale trasportare all'uomo, è giocoforza attenersi alle iniezioni sottocutanee.

La febbre può probabilmente nulla avere a che fare colla produzione di anticorpi anche nel tifo, come con certezza avviene in altre infezioni; tuttavia è difficile comprendere, data la natura del veleno tifico, come sia possibile arrivare un po' rapidamente, come si richiederebbe dai postulati della vaccinazione, a far produrre una certa quantità di anticorpi senza incappare in reazioni febbrili.

Diciamo per la natura del veleno tifico, ed in esso non vogliamo includere la sostanza pirogena dovuta alle anafilatossine tifiche di Friedberger ma solo quelle che noi chiamiamo *endotossine.* Le ricerche di Moreschi e Golgi tenderebbero a stabilire che il veleno febbrile del bacillo tifico è un veleno che funziona da antigeno e quindi da non confondere coll'anafilatossina, e come tale produce anticorpi che neutralizzano la sostanza pirogena, tale veleno è quindi da identificare colla endotossina stessa che è la sostanza vaccinale del tifo.

Del resto recenti studi del Moreschi sui leucemici, avrebbero assodato un fatto importantissimo: un vaccino antitifico il quale, su tre individui sani che servivano da controllo, provocava colla solita produzione di anticorpi rialzi febbrili fino a 40° C., iniettato invece in leucemici non diede che leggerissimi aumenti di temperatura ed insieme una *scarsa produzione di anticorpi batteriolitici;* per cui in questi oltre che inibita la funzione pirogena del vaccino, fu inibita fortissimamente anche quella di produrre anticorpi.

Ad ogni modo sia la febbre in relazione diretta o indiretta colla produzione di anticorpi nel tifo date le attuali conoscenze sui feno-

meni reattivi susseguenti alla vaccinazione per eliminarla è necessario che i vaccini abbiano ad essere molto tenui nel loro contenuto attivo, cioè in endotossina.

Questa tendenza a voler diminuire nei limiti del possibile le reazioni è dimostrata in modo irrefragabile dalle modificazioni di quantità che i varî preparatori dei vaccini e specialmente i maestri (Pfeiffer, Wright) hanno apportato ai primitivi vaccini applicati all'uomo, tra cui principale quella della maggiore diluizione delle dosi e del conseguente maggior numero di innesti vaccinali che tali diluizioni impongono quando si voglia riuscire ad ottenere una buona immunizzazione.

Bisogna dire quindi che quanto si è acquistato col rendere più deboli le reazioni, si è dovuto spendere nel maggior numero di innesti con tali dosi refratte, infatti dai due innesti primitivi di Wright Pfeiffer siamo giunti ai tre coi loro vaccini più diluiti, ed anzi ai quattro ed anche cinque di Vincent.

***

Il vaccino Vincent per il quale fu stabilita una stazione governativa a Val de Grace è diventato il vaccino ufficiale della Francia, ed è, a differenza dei precedenti costituiti da una sola razza di bacilli, preparato con varii ceppi e perciò detto polivalente; per di più conterrebbe anche bacilli del paratifo A e B. La polivalenza nel vaccino tifico era già stata consigliata da Wassermann, e ciò in ragione d'una certa variabilità osservata nei bacilli di Eberth di origine differente (variabilità che non è il caso di qui discutere), la novità, se così vuolsi, del vaccino Vincent sta nell'aver ridotto a sistema questo consiglio di Wassermann e d'aver aggiunto i paratifi A e B, e sopratutto secondo l'A. di adoperare come abbiamo veduto, la sterilizzazione coll'etere invece che quella col calore.

Prima però di arrivare a questo vaccino bacillare che salvo la polivalenza e l'aggiunta dei paratifi sarebbe identico fondamentalmente ai vecchi vaccini di Wright e Pfeiffer, servendosi anch'essi di corpi bacillari uccisi e quindi di endotossine, Vincent aveva creduto d'aver raggiunto lo scopo di quel vaccino ideale le cui proprietà noi abbiamo posto in testa a questo articolo ottenendolo con un autolisato di *bacilli viventi* (autolisi vitale, come la chiama — non so perchè — il Vincent); questo tipo di vaccino non è nuovo, già era stato proposto da Brieger e Meyer qualche cosa di simile.

Secondo l'A. questo si ottiene con una macerazione per qualche giorno in stufa di varii ceppi di tifo; a ciò egli fa susseguire la centrifugazione per liberarla dai bacilli non disfatti. Questo autolisato viene reso poi sterile con etere, e così costituisce un vaccino che, sempre secondo l'A., pure essendo dotato di energiche proprietà antigene come un bacillo vivente, non provoca nell'innestato reazioni di entità. Per ottenere un buon stato immunitario si devono praticare però *quattro-cinque vaccinazioni.*

Le vaccinazioni con tale autolisato sono però state fatte in scarso numero e sebbene a detta dell'A. i vaccini bacillari abbiano sempre dato luogo a reazioni più spiccate che non gli autolisati, essendochè *ceux ci sont de beaucoup les mieux supportés* tuttavia anche Vincent è tornato per la pratica umana ai vaccini bacillari.

L'incostanza evidente che per l'autolisi spontanea si ha nella ricchezza in estratto bacillare a seconda delle preparazioni e che può variare grandemente, deve aver dimostrato subitamente la poca praticità degli autolisati per una larga pratica vaccinale sull'uomo.

Louis e Combe infatti nella loro relazione sulla vaccinazione antitifica col vaccino polivalente di Vincent e del modo d'usarla, non parlano se non del tipo bacillare e raccomandano infatti prima d'aprire l'ampollina del vaccino di agitarla fortemente di modo da rendere l'*emulsione bacillare omogenea.*

Gli innesti da fare col vaccino bacillare Vincent sono quattro a dosi crescenti e cioè mezzo cent. cubo, un cent. cubo, un cent. cubo e mezzo, e due cent. cubi e mezzo per l'ultima.

Le reazioni vaccinali locali e generali sarebbero ridotte ad una percentuale scarsa; Louis e Combe nel 1912 parlano di reazioni nulle o piccole 94-95 % ; di reazioni medie (?) 5-6 % ; di reazioni forti eccezionali.

Vincent invece nel 1911 affermava che: « il vaccino bacillare dà luogo alle stesse reazioni locali e generali, alla medesima percentuale di reazioni febbrili che il vaccino di Wright-Leishman o quello americano. Queste reazioni e questa febbre sono perfettamente tollerabili e non più intense di quelle che provoca la vaccinazione jenneriana nei primo vaccinati ».

Certamente un anno di esperienze sulle truppe coloniali del Marocco deve aver dato degli insegnamenti sia per il vaccino da adoperare, sia per le dosi da applicare, sia per la tecnica da usare nell'innesto. Louis e Combe insistono specialmente su questo punto dimostrando che la reazione e la dolorabilità locale sono fortemente influenzate non solo dall'essere fatta la vaccinazione nei muscoli o sotto l'aponeurosi o nel cellulare, ma anche dal luogo dove l'innesto

viene fatto; così essi escludono il cellulare sottocutaneo del fianco, come pure quello del braccio nella regione deltoidea, mentre osservarono *reazioni locali insignificanti* e benigne praticando le iniezioni al punto secondo loro di elezione cioè: *la piega cutanea retro deltoidea.*

I quantitativi bacillari contenuti in un centimetro cubo del vaccino polivalente non sono stati resi noti in nessuno dei rapporti che Vincent ha pubblicati, tanto nei *Comptes rendus de l'Académie des Sciences* che in quelli della *Société de Biologie*; così pure non mi è risultato di trovare l'andamento delle temperature su di un certo numero di vaccinati; le storie dettagliate dei fatti reattivi quali furono pubblicati col vaccino di Wright o con quello di Pfeiffer-Kolle od anche coi nostri, sarebbero stati documenti ottimi per constatare se realmente noi ci troviamo dinnanzi ad un vaccino che oltre il dare l'immunità non provoca i disturbi attribuiti agli altri.

D'altronde con quasi certezza noi possiamo ora dire che: a ciò che il primo vaccino sia scarsamente dotato di proprietà pirogene deve avere un contenuto inferiore a quello del primo vaccino Wright di 500 milioni di germi, e conseguentemente inferiore notevolmente al primo di Pfeiffer che come dicemmo contiene ora il $^{60}/_{0}$ dell'ansa normale usata primitivamente, pari a circa 1200 milioni di germi, mentre il primitivo ne conteneva in circa 2 miliardi.

La tenuità in contenuto bacillare deve essere, come abbiamo già detto, compensata da un maggior numero di iniezioni, donde la necessità nel vaccino Vincent di procedere a quattro innesti. L'uso delle dosi refratte se ha il vantaggio di dare meno disturbi, vantaggio notevolissimo, porta però in sè uno svantaggio non tanto indifferente poichè richiede per l'esecuzione un periodo di tempo più lungo, non dovendosi secondo Vincent considerare vaccinato se non quegli che ha ricevuto la totalità delle iniezioni immunizzanti ossia quattro, partendo dal quindicesimo al ventesimo giorno che segue l'ultima; per cui una completa immunizzazione col metodo Vincent richiede quasi una quarantina di giorni, dovendosi spaziare le varie iniezioni tra di loro 7-8 giorni. Col metodo primitivo di Pfeiffer-Kolle 7-10 giorni dopo la seconda iniezione ossia dopo 20 giorni dall'inizio della vaccinazione si ha già quasi raggiunto il massimo di immunità (Kutscher-Hetsch).

***

Non mi soffermo a parlare degli altri metodi proposti per ottenere la vaccinazione antitifica, accennerò soltanto a due; non perchè questi abbiano avuto la larga diffusione pratica che soli ebbero

sinora i metodi precedentemente descritti; ma perchè furono proposti dagli AA. dietro considerazioni teoriche che meritano d'essere ricordate.

Uno di questi metodi è quello di Neisser Shiga detto anche dei *ricettori liberi*, con cui si ottiene un'autolisato da una macerazione di bacilli tifici uccisi a 60° C.; questa poi viene filtrata attraverso candela per liberarla dai germi non disciolti ed il liquido ottenuto costituisce il vaccino che si inietta in 3 volte a dosi crescenti.

« Tale procedimento mirerebbe a rendere liberi dai corpi batterici i ricettori, ossia quei gruppi della sostanza protoplasmatica che sono in grado di dàr luogo negli animali alla formazione degli anticorpi caratteristici dello stato d'immunità, lasciando addietro le restanti parti dei corpi batterici che per essere distrutte al punto d'iniezione provocherebbero disturbi non lievi ».

L'esperienza ha dimostrato che codesto concetto teorico non è suffragato dal risultato pratico e noi abbiamo più sopra ricordato quanto accadde a Hetsch e Kutscher per i fenomeni locali violenti ottenuti con questo tipo di vaccino.

Così pure l'altro concetto teorico (Vincent) che gli autolisati « hanno un'azione meno brutale; perchè i ricettori di essi non saturano, come fànno i corpi batterici, gli anticorpi preesistenti e per conseguenza non sollecitano allo stesso grado la produzione della *fase negativa* così dannosa in tempo di epidemia », non è più sostenibile, perchè l'esperienza ha dimostrato che *la temuta fase negativa non è da prendersi in considerazione.*

Gli autolisati bacillari del tifo si comportano quindi nel *modo identico dei vaccini bacillari* coll'inconveniente grave di non esser facili ad una dosatura precisa come questi; che se essi possono dare minori reazioni ciò non è dovuto al loro metodo di preparazione o ad una purezza maggiore del veleno immunizzante, ma piuttosto al poco contenuto di endotossina.

Le sostanze immunizzanti passano negli estratti assieme a quelle tossiche e quando questi sono poco tossici sono anche poveri di poteri immunizzanti, come videro Pfeiffer e Bessau.

L'altro metodo cui credo ancora conveniente accennare è quello di Besredka. Questo attento studioso dell'infezione tifica volle preparare un vaccino con bacilli viventi sensibilizzati con siero antitifico. Questa sensibilizzazione dei germi col relativo siero specifico avrebbe per scopo di svelenarli e nello stesso tempo lasciare loro tutte le proprietà antigene onde ottenere una forte e rapida immunità attiva.

Dal lato della produzione delle batteriolisine tifiche che sono

poi i veri anticorpi immunizzanti, i bacilli sensibilizzati rappresentono un antigeno la cui funzione è in parte già espletata. Sono note infatti le esperienze in proposito di v. Dungern, di Sachs, di Neisser e Lubowski ed ultimamente di Lanza, da cui risulta che la capacità del bacillo del tifo sensibilizzato con siero antitifico nel produrre anticorpi, se non è scomparsa è però molto diminuita.

Se quindi il vaccino sensibilizzato può costituire un elegante metodo, perchè iniettato sotto cute possa distruggersi rapidamente per batteriolisi, non è provato ch'esso possa egualmente servire per dare quella immunizzazione attiva che noi desideriamo produrre.

Il siero antitifico aggiunto agli autolisati deve a maggior ragione in questi produrre fenomeni più profondi di scissione del protoplasma batterico rendendone più inefficace quel potere antigeno che noi vorremmo risparmiato, poichè, ripeto ancora, è indiscusso che il bacillo vivo immunizza più dell'ucciso e quello ucciso con forte alterazione del protoplasma meno di quello in cui tale alterazione è blanda.

Il vaccino con bacilli sensibilizzati di Besredka fu provato sull'uomo nella Bretagna ma esso ha provocate reazioni locali e generali assai vive. Questo fatto non deve veramente stupire, poichè i bacilli sensibilizzati iniettati sotto cute sono in condizioni da mettere in libertà in modo subitaneo la loro endotossina, come accade agli autolisati, e non appena la dose sia alta deve necessariamente provocare fatti reattivi rapidi ed intensi più che non coi bacilli normali i quali più lentamente passano in dissoluzione.

Tanto i metodi di Neisser Shiga quanto quello di Besredka non sono stati utilizzati sull'uomo, se non in minime proporzioni sebbene quest'ultimo abbia trovato in Francia un certo numero di applicazioni anche nella cura del tifo pare con buoni risultati.

I vaccini che tengono ora il campo e che sono largamente utilizzati, sono quelli bacillari sia uccisi col calore, sia coll'etere o con quel qualsiasi mezzo meno alterante la compagine batterica.

Se da questa rapida rassegna dell'esperienze altrui noi volessimo trarre qualche conclusione generale di orientamento nella preparazione di un vaccino, allo stato dei fatti d'oggi dovremmo dire che:

la sostanza la quale serve d'antigeno nelle vaccinazioni contro il tifo, è il protoplasma batterico ossia lo stesso bacillo *in toto*, e ch'esso serve tanto più quanto meno alterato;

che da antigeno può pure servire la endotossina tifica quale si trova negli autolisati dei bacilli;

che tanto queste quanto quelle contengono un gruppo cui va

attribuita l'azione pirogena dei vaccini tifici; azione pirogena che nella sua manifestazione è in rapporto alla quantità di endotossina iniettata od al numero dei bacilli;

che in linea generale la produzione di anticorpi immunitari battericidi e batteriolitici è in correlazione al quantitativo batterico od endotossico iniettato;

che non è al momento possibile ottenere in una volta sola e con una sola iniezione sottocutanea uno stato immunitario discreto, essendo l'uomo, anzi certi individui, sensibilissimi al veleno tifico;

che i fenomeni reattivi sono legati oltrechè al quantitativo di sostanza vaccinale iniettata, anche alla sensibilità individuale e che in relazione a questa per avere scarsa reazione bisogna procedere all'iniezione di vaccini contenenti dosi refratte di antigeno.

A questo punto vien fatto di domandare quale è la messe che si è raccolta in Italia intorno a quest'ordine di studi e più specialmente intorno al vaccino tifico, perchè sola l'esperienza può insegnare quello che si deve fare e quello da tralasciare.

Noi non abbiamo purtroppo avuto in questo campo gli strenui studiosi dell'argomento e propugnatori dell'immunità antitifica coi vaccini quali ebbero l'Inghilterra con Wright, la Germania con Pfeiffer, la Francia con Chantemesse! Per noi uno singolare scetticismo od una sdegnosa diffidenza per le novità e le cose non assolutamente certe, fanno sì che coloro che potevano occuparsi non ne vollero sapere, e quelli che avrebbero voluto non ne ebbero il potere.

Comunque sia anche in Italia qualche cosa si è fatto ed in via dottrinale oltre che pratica gli studi di Moreschi largamente da noi riportati, stanno a dimostrare che anche qui l'argomento fu studiato con attenzione.

Il Bruschettini poi sin dal 1892 nel Laboratorio del Tizzoni riuscì ad immunizzare conigli con colture riscaldate a 60°, dando, credo, il primo esempio di vaccinazione tifica negli animali con materiale ucciso col calore.

Dopo di lui il Paladino Blandini presso il De-Giaxa studiò questo argomento diffusamente; ma veramente la prima pratica sull'uomo fu fatta dallo Sclavo e dai suoi collaboratori Castellini, Triglia, Marzuoli fino dal 1904.

Il Castellini esperì il vaccino preparato dallo Sclavo col metodo Neisser Shiga sopra ricordato nel Comune di Certaldo in Toscana, dove il tifo regnava da tempo. Le iniezioni fatte con esso non die-

dero luogo ad inconvenienti nè a reazioni spiccate salvo le solite sensibilità individuali.

Più numerose furono le vaccinazioni esperite da Mazzuoli e Triglia a Poggibonsi con *due tipi* di vaccino fornito dallo stesso Sclavo, l'uno autolisato come il precedente, l'altro che conteneva traccie di siero antitifico.

Questo secondo vaccino che fu somministrato ad oltre 100 persone in due-tre iniezioni successive, ha dato luogo a reazioni generali ma sopratutto locali assai più marcate che non il vaccino costituito dal semplice autolisato. Le reazioni locali ebbero per caratteristica specialmente la dolorabilità al punto d'innesto ed una orticaria persistente con prurito.

Questa orticaria ed eritemi furono dallo Sclavo attribuite alla presenza nel vaccino del siero antitifico proveniente da pecora.

Fu pure fatto su alcuni dei vaccinati lo studio sierodiagnostico, studio che sgraziatamente si limitò alla agglutinazione, reazione che come vedemmo ha poco valore per il criterio immunitario nel tifo; queste fatta 2-3 mesi dopo la vaccinazione in coloro che ebbero il siero vaccino dimostrò che mancavano nel siero le agglutinine tifiche anche nel rapporto molto basso di 1:50.

Questi primi esperimenti pubblici fatti in Italia furono istruttivi, perchè svoltisi in località ed in famiglie dove dominava il tifo che da queste vaccinazioni ebbero a vantaggiarsene come risulterebbe dalla lettura delle relazioni degli egregi Medici che le hanno seguite da vicino.

Ma a questi primi tentativi che risalgono all'estate del 1904, fatti come dissi sotto l'impulso dello Sclavo, non seguì un regolare sviluppo scientifico e pratico nelle vaccinazioni antitifiche come era da sperare.

Soltanto nel 1908 noi troviamo ancora trattato l'argomento nella sua parte pratica dal Garzoli nella Clinica del Prof. M. Ascoli. Tale studio riesce tanto più interessante in riguardo alle reazioni, perchè le vaccinazioni fatte su 16 individui furono in parte praticate col vaccino Pfeiffer Kolle (7) in parte col vaccino Neisser Shiga (9), donde si può istituire un istruttivo confronto.

Anche qui come già da Kutscher-Hetsch veniva osservato che i fenomeni locali erano più rapidi e più intensi col vaccino Neisser-Shiga che non col Pfeiffer-Kolle, mentre le reazioni febbrili furono più numerose con questo che con quello, sebbene siansi avuti fatti di reazioni intense febbrili anche col Neisser-Shiga.

Delle ricerche sierodiagnostichè fu fatta anche qui la sola agglutinazione ed anche qui la differenza tra il vaccino bacillare e l'auto-

sultato fu molto evidente e tutta in favore del metodo di Pfeiffer-Kolle, poichè si ebbero per i massimi titoli agglutinanti i rapporti di 1:640 in questo ad 1:40 nell'altro. L'A. poi in questi suoi casi osservò che coloro che avevano maggiormente reagito all'iniezione con fenomeni generali mostrarono poi altresì un più spiccato valore agglutinante.

Dopo questi lavori, ch'io mi sappia, nessun altro comparve in Italia sulle vaccinazioni di cui trattiamo.

Per trovare un risveglio in questa branca della profilassi Eberthiana bisogna arrivare al passato anno.

Nel 1912 anche per l'Italia in seguito all'impresa libica la questione della vaccinazione antitifica nelle truppe coloniali, si fece sentire in tutta la sua importanza come già il Marocco aveva imposta la questione per la Francia.

Nei giornali militari noi troviamo infatti i più ampî resoconti sul valore delle vaccinazioni antitifiche praticate all'estero ed espressa la grande fiducia in esse nel caso che si dovesse ricorrervi.

L'inizio improvviso, come dice il Rho, ed impreveduto di questa impresa coloniale, poteva mettere l'Autorità sanitaria militare in imbarazzo per la possibilità di dover agire e praticare le vaccinazioni antitifiche non su soldati riposati ed in periodo di tranquillità ma su truppe che potevano essere chiamate ad ogni momento al fuoco e che quindi dovevano trovarsi nel miglior benessere per ottenere la massima efficienza.

Come si esplichi sull'uomo la vaccinazione antitifica, noi abbiamo veduto nella prima parte di questo scritto.

L'Autorità Sanitaria militare conscia di tutto questo doveva senza dubbio ponderare da un lato la questione delle vaccinazioni, dei loro esiti, quali la larga esperienza fatta all'estero insegna, e dall'altro gli ostacoli e le responsabilità gravi che le necessità guerresche imponevano in quel momento.

Mancando in Italia una larga prova di esperienza sull'efficacia e sul comportamento di un dato vaccino, poichè tale non puossi dire quello dello Sclavo, o del Garzoli, non poteva esservi altra strada da seguire che quella indicata dall'opera grande di Pfeiffer, di Wright, di Russel; poichè il metodo di Vincent era anch'esso ai suoi inizî ed ancora titubante tra gli autolisati ed i vaccini bacillari; l'*esperienza* era già stata fatta a noi non rimaneva che l'*applicazione* di tali metodi. Forse tra questi vecchi vaccini di indiscutibile efficacia nei risultati si poteva essere perplessi nella scelta per la differenza di reazioni che essi possono provocare, essendo il contenuto batterico di ciascuno molto diverso come già abbiamo avuto modo di vedere.

Pfeiffer Kolle al presente consiglia infatti 2-3 iniezioni così graduate:

0 4 - 0,8 - 1,00 cc.

di una emulsione contenente due anse normali (4 mmgr.) di patina di tifo di 24 ore per cc. di soluzione fisiologica.

Wright-Leishman e così pure Russel danno alle loro iniezioni fatte in numero di tre questi rapporti:

1. Vaccino 500 milioni di germi
2. » 1 miliardo di germi
3. » 1 miliardo di germi.

I rapporti del contenuto in germi nelle soluzioni del vaccino Vincent che si applica in quattro iniezioni non sono conosciuti.

Se quindi noi limitiamo la nostra attenzione ai due primi vaccini, che sono anche i più provati, e ne mettiamo a confronto il contenuto bacillare, troviamo secondo esperienze costituite nel nostro laboratorio, e naturalmente colle riserve che tal genere di conteggio impone, che:

Pfeiffer Kolle

1° vaccino contiene in circa 1200 milioni
2° vaccino contiene in circa 3200 milioni
3° vaccino contiene in circa 4000 milioni

Wright Leishman

1° vaccino contiene 500 milioni di germi
2° vaccino contiene 1 miliardo di germi
3° vaccino contiene 1 miliardo di germi

Noi abbiamo espressa già antecedentemente la nostra convinzione, ed abbiamo detto il perchè crediamo all'efficacia maggiore nell'immunizzazioni fatte con vaccini bacillari in confronto a quella degli altri tipi di vaccino, pur non disconoscendo che anche negli autolisati si possa trovare un vaccino da essere adoperato.

La scelta poi del quantitativo numerico bacillare, se attenersi a quella consigliata da Pfeiffer od a quella da Wright, è tutta *d'ordine soggettivo e di opportunità.*

Il Rho infatti in un recente articolo sulle vaccinazioni antitifiche nella R. Marina discutendo su due vaccini adoperati a Tobruk e nella R. Accademia Navale di Livorno dei quali uno era di preparazione dell'Istituto Sieroterapico Milanese e l'altro dello Sclavo, dice che « si è finito a dare la preferenza al vaccino autolisato Sclavo per ragioni d'ordine puramente pratico e se vogliamo opportunistico ».

« Giacchè, a vincere la risultanza spiegabilissima, data la novità di questa profilassi, massime in un Istituto (la R. Accademia Navale) che accoglie gioventù studiosa di ogni parte d'Italia, era necessario eliminare, per quanto era possibile, ogni ragione di opposizione individuale e famigliare; e questa opposizione poteva essere maggiore di quello che non sia stata se avessimo adoperato un vaccino capace di determinare fenomeni reattivi generali e locali di qualche importanza. Questi inconvenienti non si incontrano infatti col vaccino Sclavo ».

Naturalmente quando l'Istituto Sieroterapico Milanese fu richiesto nel passato anno di inviare vaccino antitifico alla R. Marina ha creduto opportuno inviare un tipo di vaccino conosciuto per efficacia ben determinata.

Il quantitativo bacillare infatti in esso contenuto era il 40 % di ansa normale ossia computandolo alla Wright di una quantità numerica ed in peso discretamente minore, quindi del 1° vaccino Kolle, ossia di 800 milioni di germi; il 2° vaccino conteneva 1600 milioni di germi; il 3° vaccino conteneva 2200 milioni di germi.

I bacilli tifici adoperati erano di varia provenienza, la sterilizzazione ne era fatta coll'etere l'indice di sterilità era dato dal rivelatore Gosio al tellurito, nel quale si può fare il più sicuro affidamento e che è sempre consigliabile in questo genere di preparazioni. Ogni antisettico veniva quindi escluso restando così impedita ogni ipotetica azione nociva di esso sul vaccino.

La relazione del Luzzati sulle vaccinazioni praticate a Tobruk nella R. Marina con tale vaccino porta l'andamento delle temperature dei 40 vaccinati che sarebbero state le seguenti: 21 con temperature inferiori ai 38; 11 che non superarono i 38,2; 2 che raggiunsero i 38,5 e 5 che superarono i 39.

Quasi tutti sfebbrarono in meno di 36 ore.

Le reazioni quindi, pur essendo marcate, non presentarono nulla di eccezionale in una vaccinazione tifica e con un quantitativo batterico che supera quello dei vaccini Wright, e questo tanto più se noi consideriamo quanto con molto criterio dice il Luzzati stesso che:

« La gente vaccinata colà si trovava in condizioni speciali, i lavori quotidiani in una piazza nuova dove tutto è in formazione

sono così molteplici, che assorbono costantemente il personale. I lavori di sterro, di mine, di scarico di vapori richiedevano da parte della gente l'uso di tutte le loro forze.

« Occorreva poi non dare ai poco volonterosi l'appoggio legale di una indisposizione provocata per ragioni profilattiche.

« In queste condizioni le iniezioni non poterono essere praticate sempre ad intervalli regolari: cosicchè per alcuni passarono tra l'una e la successiva 8 o 10 giorni, e per altri 15 ed anche più, non potendo il personale essere distratto da lavori importanti. Sarebbe quindi consigliabile per altri casi di fare le inoculazioni in Italia prima di mandare la gente nei luoghi ove domina l'infezione ».

Lo stesso Luzzati dice che dal punto di vista pratico, se si potesse scegliere, sarebbe preferibile una sola iniezione con una reazione mediocramente viva, piuttosto che tre inoculazioni con reazione minore. Certamente sarebbe preferibile questo metodo, ma sgraziatamente come dicemmo ciò non è possibile; poichè quando si tentò da Wright nel Transwal d'immunizzare i soggetti con una sola dose un po' forte di coltura sterilizzata, si osservarono brividi, nausee, ipertermie forti con tendenza a collasso, insomma accidenti inquietanti d'avvelenamento che talora non si dissipavano se non lentamente.

Riguardo all'Esercito di terra sappiamo che un larghissimo esperimento è stato fatto dall'Autorità superiore Sanitaria Militare con varî tipi di vaccino tra i quali anche uno richiesto all'Istituto Sieroterapico Milanese il quale era nel complesso simile al sopradescritto ma coll'aggiunta in più dei paratifi A e B e con contenuto bacillare inferiore.

Dai risultati di queste vaccinazioni fatte nella Libia sopra una scala abbastanza grande per essere dimostrativi non tocca a me parlarne non essendo ancora stati pubblicati i dettagli e non conoscendone i risultati.

Qualunque essi siano non credo possano cambiare il significato delle cose che io sono andato qui esponendo.

Essi ci diranno colla soda argomentazione della esperienza quali potranno essere per l'avvenire le dosi bacillari migliori per eliminare possibilmente il maggior numero degli inconvenienti *senza diminuire di troppo l'efficacia vaccinale;* tanto più che coi vaccini bacillari sia per conteggio, sia ancora meglio per dosatura ad anse normali, si ha una grande sicurezza ed eguaglianza di tecnica per tutte le preparazioni.

In questa mia rapida esposizione io mi sono limitato a quelle

reazioni che intervengono dietro alla prima iniezione vaccinale come quella che in generale è più spiccata, segnando essa la capacità reattiva o sensibilità individuale.

Le iniezioni successive sono ordinariamente più tollerate, sebbene le reazioni si presentino talvolta solo alla seconda vaccinazione e qualche volta alla terza. In tali casi le iniezioni precedenti servono da sensibilizzatrici alle susseguenti, tanto più quando si lascia passare tra l'una e l'altra iniezione, quel periodo che nelle malattie da siero viene detto preanafilattico (12 giorni od oltre) e che, crediamo, non dovrebb'essere lasciato trascorrere nelle vaccinazioni tifiche.

I risultati prossimi della vaccinazione quali noi siamo soliti ricercare sia sugli animali che sull'uomo (aumento in ricchezza di anticorpi agglutinanti, bateriolisine, battericidine, ecc.) hanno in realtà solo un valore relativo, un valore d'orientamento per conoscere se un dato vaccino possieda un vero valore antigeno. Soltanto una lunga esperienza clinica, come dice il Grixoni, nella sua bella monografia sulle vaccinazioni antitifiche, potrà risolvere tutti i dubbi che ancora sorgono sul valore di esse e sul miglior tipo di vaccino da adottare nel senso del quantitativo numerico bacillare da adoperare.

Potremo quindi anche noi concludere col Rho che anche in Italia i tempi sono ormai maturi per deciderci a praticare la vaccinazione antitifica come si fa negli Stati Uniti, in tutte le reclute dell'Esercito e della Marina; adoperando, a mio avviso anche noi come là, come in Germania, come in Inghilterra, come in Francia, quel tipo di vaccino bacillare che ha fatto appunto colà ottima prova *anche se esso dovesse provocare delle reazioni vaccinali*

D'altronde con ragione Chantemesse può affermare che: « les divers modes de préparation du vaccin se valent, parce qu'au fond il n'y a qu'un vaccin, toujours le même, quelle que soit la parure dont on le déguise. Ce vaccin c'est la toxine typhique stérilisée et administrée à dose convenable, voilà tout. Avec elle, on a déjà fait deux douzaines de vaccins. On pourrait en faire bien davantage et tous efficaces, *à condition d'y mettre la dose necessaire* »; e noi aggiungeremmo *sotto forma possibilmente intatta*.

———